И.В. Трутаев
(Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии)

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ОЛИГОПЕПТИДЫ: ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ ХИМИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ И ИНТОКСИКАЦИЯХ

Проведение комплекса приводимых исследований было вызвано рядом объективных обстоятельств. Прежде всего современные продуктивные животные периодически или постоянно подвергаются стрессогенам, подвержены гиперадреналинемии, дизглюкоземии и другим биохимическим изменениям в организме. Кроме этого, нарушения экологии, широкое использование удобрений, пестицидов – это постоянная опасность появления острых, хронических или субклинических интоксикаций. Между тем практика испытывает недостаток как неспецифических, так и специфических антидотов. Уже это говорит об актуальности проблемы. Есть еще один важный фактор. Применение индивидуальных химических нагрузок способствует раскрытию биохимических и молекулярных механизмов изучаемых фармакологических препаратов.

Адреналиновая нагрузка. Возбуждение гипоталамуса при стрессе сопровождается активацией не только коркового, но и мозгового слоя надпочечников. Происходит выброс адреналина и повышенное обеспечение органов и тканей глюкозой. Гипергликемия характеризует уровень фазы шока стадии тревоги стресс-реакции. Поэтому влияние испытуемого препарата на содержание глюкозы в крови может характеризовать его отношение к энергетическому обеспечению как интактной, так и напряженной функции.

Опыты проведены на самцах белых крыс линии Wistar со средней массой тела 180,0±20,0 г по следующей схеме. Подобрано 9 групп животных по 11 особей в каждой. У всех крыс перед началом опыта взяли из хвоста кровь и определили в ней содержание глюкозы. Затем интактным животным ввели подкожно по 0,5 мл стерильного физиологического раствора. Контрольные крысы получили по 0,5 мл 1,0%-го раствора адреналина. Опытным крысам (по 2 группы на препарат) вводили растворы из расчета: тимоген – 1,0 и 100,0; неоген – 10,0 и 1000,0 и седатин – 10,0 и 100,0 мкг/кг за 1 час до введения адреналина. Через 1, 3, 6 и 24 часа после введения адреналина у всех животных определяли содержание глюкозы в крови. По ее динамике судили о стресс-корректорном действии изучаемых синтетических олигопептидов. Результаты опытов сведены в таблицах 1, 2 и наглядно показаны на рисунке 1.

Опыты показали, что введение адреналина в течение первого часа способствует повышению уровня глюкозы в крови на более чем 40%. Затем количество глюкозы в крови достаточно резко, более чем в 2 раза, снижается к 3-му часу и далее приходит к исходному. Пептиды в целом предупреждают адреналиновую гипергликемию. Однако степень и динамика их действия зависит от препарата и его дозы.

По отношению к контролю и исходному состоянию введение до адреналина самих пептидов не влияет на содержание глюкозы в крови. Через 1 час после введения адреналина характер гликемического гомеостаза у животных, которым вводили изучаемые препараты, существенно изменяется. Препараты уменьшают уровень гипергликемии на 10% - 40% по отношению к контролю. При сравнении с исходным состоянием видно, что в активных дозах 10,0 – 100,0 мкг/кг они практически предотвращают накопление глюкозы в крови. Здесь наиболее активен неоген в дозе 10,0 мкг/кг. Дальнейшее увеличение дозы олигопетида не сопровождается повышением его активности. Влияние тимогена однонаправлено с неогеном, по общей тенденции выражено слабее.

Седатин также проявляет антигипергликемический эффект, вызываемый адреналином. В дозе 1,0 мкг/кг через 1 час после введения гормона он предупреждает повышение уровня глюкозы в крови на 8% - 20% по сравнению с контролем. Наиболее эффективна доза препарата – 100,0 мкг/кг массы тела животных. По сравнению с исходным такой результат в этой же дозе хорошо проявляется. Так, если в контроле уровень глюкозы по сравнению с исходным повышается на 43,6%, то в опыте – лишь на 9,1% или на 34,5% меньше.

Через 3 часа после введения действие адреналина существенно уменьшается. В

Таблица 1

Динамика гипергликемии у крыс при адреналиновой нагрузке на фоне применения изучаемых олигопептидов

№ п/п	Препарат, доза, мкг/кг		Содержание глюкозы, мМ/мл					
			Перед началом опыта	Перед введением адреналина	После введения адреналина, часов			
					1	3	6	24
1	Контроль		5,55±0,23	5,62±0,34	7,97±0,41	6,44±0,39	5,12±0,35	5,15±0,30
2	Тимоген:	1,0	5,48±0,20	5,53±0,36	7,12±0,55	5,83±0,42	5,31±0,39	5,40±0,31
3		100,0	5,64±0,27	5,58±0,35	6,03±0,42	5,95±0,33	5,50±0,41	5,60±0,35
4	Неоген:	10,0	5,31±0,30	5,49±0,35	4,99±0,35	4,64±0,27	5,02±0,28	5,48 70,30
5		1000,0	5,45±0,33	5,45±0,30	5,18±0,44	5,32±0,38	5,11±0,32	5,25±0,28
6	Седатин:	1,0	5,68±0,29	5,62±0,34	7,16±0,50	6,55±0,40	5,58±0,30	5,61±0,31
7		10,0	5,50±0,21	5,58±0,31	6,78±0,54	6,13±0,37	5,00±0,27	5,44±0,40
8		100,0	5,58±0,27	5,60±0,35	6,09±0,57	5,05±0,28	4,87±0,19	5,15±0,37
9		1000,0	5,57±0,31	5,60±0,32	6,41±0,38	5,94±0,31	4,92±0,28	5,28±0,42

контроле уровень гипергликемии составляет всего 16,0%. На этом фоне в большинстве вариантов опытов испытуемые олигопептиды способствуют еще большей нормализации уровня глюкозы в крови. При этом применение неогена в дозе 10,0 мкг/кг и седатина – 100,0 мкг/кг усугубляет этот процесс. По сравнению с контролем на этот час содержание глюкозы в крови уменьшается на 22,0-28,0%, а с исходным состоянием – на 10,0-13,0%.

Через 6 и 24 часа после введения гипергликемический эффект адреналина практически прекращается как в контрольной группе крыс, так и в опытных. Влияния препаратов также не наблюдается.

Атропиновая нагрузка. Атропин – классический природный холинолитик с центральной, вплоть до наркотического, действием. Он широко используется, в том числе, как антидот при антихолинэстеразных интоксикациях, но и часто сам проявляет токсическое действие.

Опыты выполнены на самцах белых крыс линии Wistar со средней массой тела 200,0±20,0 г по общепринятой методике, которая заключается в следующем. Набрали 9 групп животных по 9 особей в каждой. Контрольных и опытных крыс обработали в соответствии с предыдущей схемой. Затем животных через 1 час после введения препаратов подвергли иммобилизации. После успокоения у каждой крысы подсчитали частоту дыхания и ввели подкожно по 1,0 мл однопроцентного раствора атропина. Через 0,5; 1,0; 3,0 и 6,0 часов считали количество дыхательных движений. Опыты показали, что тимоген и неоген в широком диапазоне доз от 1,0 до 1 000,0 мкг/кг не оказали влияния на частоту дыхательных движений до введения атропина. По иному действовал седатин. Он в дозах 10,0 100,0 мкг/кг проявил выраженное успокаивающее действие на организм крыс. В процентном выражении это составило 11,5% - 19,8%. Данные по влиянию испытуемых олигопептидов приведены в таблице 3. Опыты показали очень сложные взаимоотношения, особенно для седатина, с организмом, подвергнутым двойной, достаточно сложной для физиологии нагрузке.

В контроле в динамике введение атропина иммобилизованным животным в течение первого часа повышало частоту дыхания на 25%. Затем оно восстанавливалось и не отличалось от исходного. Максимум повышения приходился на первый получас. Действие атропина не превышало 3-х часов.

Тимоген и неоген в широком диапазоне доз, от 1,0 до 1 000,0 мкг/кг практически не оказывали влияния по данному показателю на комплексную нагрузку. Седатин в дозах от 10,0 до 1 000,0 мкг/кг прогрессивно способствовал повышению выносливости животных. При этом оказалось, что предварительное введение препарата изменило течение, как фазы шока, так и противошока алармреакции. Так, в контроле она текла в соответствии с нагрузкой. Через 0,5 часов после иммобилизации и введения атропина дыхание крыс участилось на четверть, и такое со-

стояние животных наблюдалось в течение часа. В больших дозах седатин действовал дольше.

Интоксикация окисленной олеиновой кислотой. Окисленная олеиновая кислота (ООК) использовалась еще Ю.Б. Кудряшовым в качестве модели радиотоксинов и прооксидантного стресса. Поэтому представило интерес оценить действие изучаемых пептидов на интоксикацию ООК. Опыты проведены на самцах белых мышей. Испытали неоген и седатин. Препараты вводили за 1 час до ООК подкожно в разных дозах. Затем ввели ООК внутрибрюшинно в дозе 1,0 мл на животное. В течение 3-х суток оценивали гибель мышей. Всего набрано 4 группы по 12 особей в каждой. Контрольным животным ввели подкожно по 1,0 мл стерильного физраствора, а внутрибрюшинно ООК. Результаты опыта показаны на рисунке 2. Испытуемые препараты проявляют некоторое защитное действие при острой интоксикации окисленной олеиновой кислотой. По дозам и экспозиции защиты неоген и седатин существенно не различались. Применение пептидов удлинило время выживаемости и сократило смертность животных.

Мединал. Сегодня живой организм повседневно вынужден встречаться с «морем» химических нагрузок самых разнообразных по характеру, силе, механизму действия. Поэтому выяснение отношения синтетических олигопептидов к таким повреждениям имеет большой клинический интерес, как в плане профилактики в предвидении угрожаемых периодов, так и при комплексной терапии и реабилитации.

Выше описаны результаты испытаний эффективности разрабатываемых пептидов при интоксикациях высокими дозами холинолитика и холино-миметика, мощным оксидантом, нейролептиком и нейроплегиком. Неспецифическая сущность всех методик сводится к следующему. Токсиканты в дозах ЛД50 или ЕД 50 вводили на фоне применения изучаемых препаратов. Оценку их эффективности проводили по выживаемости и (или) скорости и степени восстановления исходного физиологического состояния.

Ниже описано влияние пептидов на течение мединалового сна. Метод основан на определении влияния изучаемых веществ на динамику развития состояния сна, вызванного введением барбитурата.

Мединал (5,5-диэтилбарбитурат натрия) является производным барбитуровой кислоты. В терапевтических дозах обладает выраженным успокаивающим и снотворным действием. Эффекты обусловлены влиянием на метаболические процессы мозга, синаптическую передачу, а также систему тормозного медиатора – ГАМК. Токсические дозы препарата могут вызывать угнетение дыхания, сосудистый коллапс, изменение пульса, понижение температуры тела, коматозное состояние.

Результирующими показателями являются средняя величина латентного периода сна, продолжительность сна и количество животных в состоянии сна. В

Таблица 2

Динамика гипергликемии у крыс при адреналиновой нагрузке на фоне применения изучаемых олигопептидов (в процентах к контролю)

№ п/п	Препарат, доза, мкг/кг		Содержание глюкозы, мМ/мл					
			Перед началом опыта	Перед введением адреналина	После введения адреналина, часов			
					1	3	6	24
1	Контроль		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	Тимоген:	1,0	98,7	98,4	89,3	90,5	103,7	104,9
3		100,0	101,6	99,3	76,0	92,4	107,4	108,7
4	Неоген:	10,0	95,7	97,7	62,6	72,0	98,1	106,4
5		1000,0	98,2	97,0	65,6	82,6	99,8	101,9
6	Седатин:	1,0	101,8	100,0	89,8	101,7	109,0	108,9
7		10,0	99,1	99,3	85,1	95,2	97,7	105,6
8		100,0	100,5	99,6	76,4	78,4	95,1	100,0
9		1000,0	100,4	99,6	79,7	92,2	96,1	102,5

Таблица 3

Частота дыхания у белых крыс в условиях применения испытуемых пептидов, иммобилизации и атропиновой нагрузки

№ п/п	Препарат, доза	Частота дыхания, движений в минуту				
		до введения атропина	после введения атропина, часов			
			0,5	1,0	3,0	6,0
1	Контроль	85,1±4,9	106,7±8,8	105,1±4,4	83,5±4,1	84,1±5,5
2	Тимоген 1,0	81,9±6,5	104,0±7,5	100,8±6,3	83,0±5,2	82,2±5,0
3	100,0	83,2±5,8	108,1±10,4	103,5±5,1	81,3±6,4	84,3±6,1
4	Неоген 10,0	86,1±6,4	111,8±12,1	108,7±6,4	85,5±4,5	84,9±4,8
5	1000,0	82,8±4,4	105,5±6,8	101,4±5,6	84,7±5,8	83,7±5,2
6	Седатин 1,0	84,2±5,1	105,8±6,1	84,1±2,7	82,6±7,7	84,0±4,3
7	10,0	78,4±3,7	98,3±9,4	81,6±4,2	80,4±4,9	84,4±5,1
8	100,0	72,8±4,2	80,1±4,0	81,1±3,8	81,1±3,8	86,1±4,9
9	1000,0	74,4±3,6	78,8±5,3	79,9±4,0	80,8±4,0	82,7±5,5

экспериментах использовали самцов белых беспородных мышей, разделенных по принципу парных аналогов на 5 групп (первая – «контроль» - действие мединала на фоне введения плацебо, 2-5 группы – «опыт» - действие мединала на фоне введения различных доз исследуемых препаратов, по 8-14 животных в каждой).

После введения изучаемых препаратов животным всех групп однократно подкожно инъецировали 1% раствор диэтилбарбитурата натрия (мединала) из расчета 300 мкл на 20 г массы. Визуально по секундомеру фиксировали продолжительность латентного периода сна, а также продолжительность состояния сна. После введения мединала состояние мышей характеризуется вначале некоторым угнетением, затем беспокойством. Животные совершают неестественные движения, отмечаются явления атаксии. Момент наступления сна регистрировали по характерному боковому либо спинному положению мышей. Введение рекомендуемой дозы мединала сопровождается развитием состояния сна у 85-95% белых мышей. При этом средняя продолжительность латентного периода в контроле составляет 90±15,0 минут, продолжительность мединалового сна достигает 65-80 минут. Полученные усредненные величины в каждой из опытных групп сравнивали с контрольными показателями.

Действие препаратов пептидов с адаптогенными свойствами характеризуется следующими эффектами: 1 – или увеличение продолжительности латентного периода на 15%-30%; 2 – или уменьшение продолжительности состояния сна на 20%-50%; 3 – снижение количества животных в состоянии сна в единицу времени на 30%-40%.

Параллельное использование схемы введения токсических доз мединала (350,0 мг/кг) позволяет оценивать одновременно центральные и антитоксические свойства препаратов. В данном случае регистрировали продолжительность латентного периода сна, процент летальности, а также пальпаторно по исчезновению сердечного толчка и дыхательных движений фиксировали момент гибели животных. Проявление защитных эффектов при этом свидетельствует об адаптогенных свойствах препаратов.

В таблице 4 показано, что испытанные вещества или удлиняют латентный период, или сокращают продолжительность сна. Но в любом случае проявляют адаптогенный эффект. Хотя и здесь, как и практически во всех предыдущих случаях универсализм в действии не имеет места.

ДОУМГ-интоксикация. 5,6-диоксиурацил моногидрат (ДОУМГ) уже в небольших дозах по сравнению с ООК (140,0 мг/кг однократно подкожно) проявляет классические прооксидантные свойства. Наиболее чувствительны к нему островки Лангерганса поджелудочной железы. Поэтому ДОУМГ в первую очередь вызывает гипергликемию. Представляет несомненный интерес отношение изучаемых препаратов к ДОУМГ-гипергликемии.

Опыты проведены на самцах белых

Таблица 4

Влияние изучаемых пептидов на течение мединалового сна

№ п/п	Вещество, доза, мкг/кг	Продолжительность, минут		Процент к контролю	
		латентный период	сон	латентный период	сон
1	Контроль	26,3±0,6	51,8±2,4	100,0	100,0
2	Неоген 10,0	30,4±0,9	46,5±1,8	119,6	89,8
3	Седатин 1,0	20,8±0,2	67,2±2,2	85,9	128,5
4	10,0	24,5±0,6	42,3±2,2	79,1	81,7
5	100,0	32,1±0,4	54,6±2,2	122,1	105,4
6	1000,0	36,4±1,1	59,9±3,4	138,4	115,6

мышей. Для этого подобрали шесть групп животных по 10 мышей в каждой. Контрольным мышам вводили раствор ДОУМГ, опытным – за 1 час до токсиканта растворы изучаемых пептидов. Учитывали смертность мышей в течение 14 суток. Полученные результаты приведены в таблице 5.

Наблюдения показали, что изучаемые синтетические олигопептиды, в частности, неоген и седатин проявляют умеренное защитное действие при остром прооксидантном стрессе. Наиболее эффективным оказались неоген в дозе 10,0 мкг/кг и седатин в дозе 100,0 мкг/кг.

Острые химические нагрузки и интоксикации, если для них не разработаны специальные антидоты, трудно поддаются профилактике и терапии. В приведеных выше экспериментах изучаемые синтетические олигопептиды оказывали защитное действие на организм при различного рода физически-эмоциональных нагрузках и кислородной недостаточности. Учитывая, что препараты, проявляющие адаптогенное действие оказывают его в той или иной мере при разных нагрузках, представился интерес испытать профилактическое действие изучаемых синтетических олигопептидов и при различных острых химических нагрузках и интоксикациях.

Опыты проведены на пяти моделях неблагоприятного воздействия на организм химических веществ с различными механизмами действия. Это адреналиновая и атропиновая нагрузки. Здесь оценку эффективности препаратов проводили по скорости и степени восстановления изучаемых физиолого-биохимических пара-

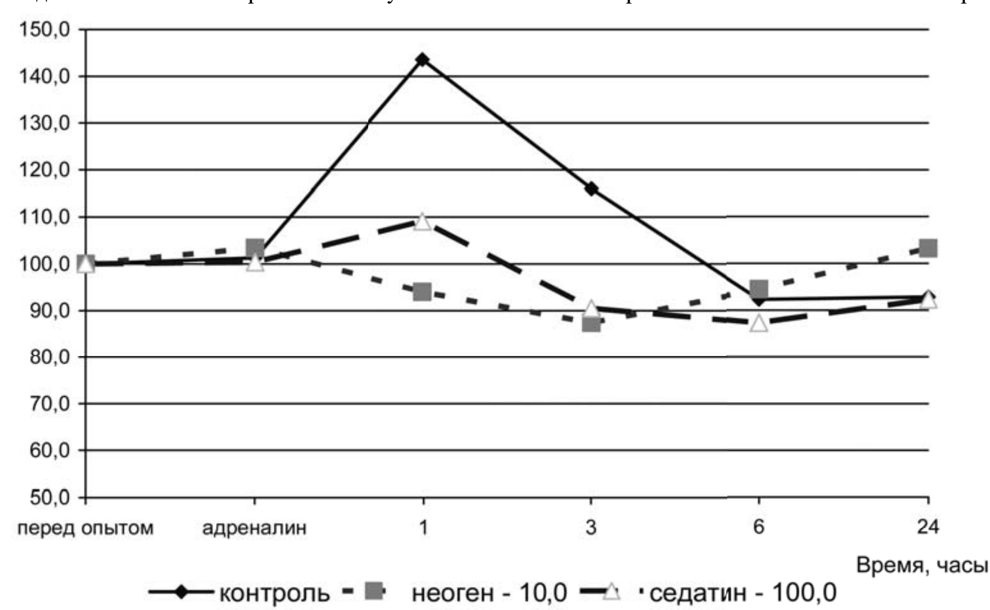


Рисунок 1. Динамика гипергликемии у крыс при адреналиновой нагрузке на фоне применения неогена и седатина

Таблица 5

Влияние неогена и седатина на течение ДОУМГ-интоксикации у белых мышей

№ п/п	Препарат, доза, мкг/кг	Пало мышей	Процент выживания	Процент к контролю
1	Контроль	5	50,0	100,0
2	Неоген 10,0	3	70,0	140,0
3	Седатин 1,0	5	50,0	100,0
4	10,0	4	60,0	120,0
5	100,0	3	70,0	140,0
6	1000,0	4	60,0	120,0

метров. Интоксикации прооксидантами - окисленной олеиновой кислотой и 5,,6-диоксиурацил моногидратом. Это жесткие интоксикации и оценку защитной активности изучаемых препаратов осуществляли по выживаемости животных. Наконец,

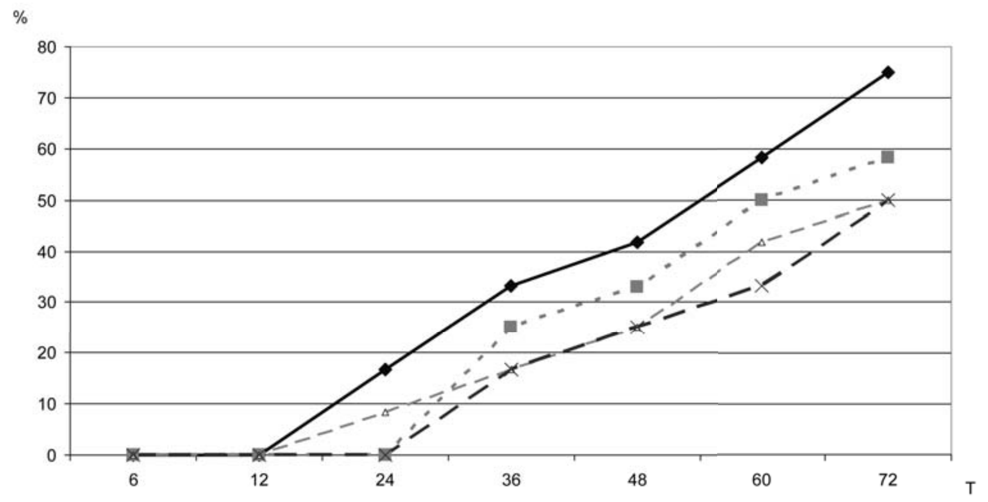


Рисунок 2. Динамика гипергликемии у крыс при адреналиновой нагрузке на фоне применения неогена и седатина

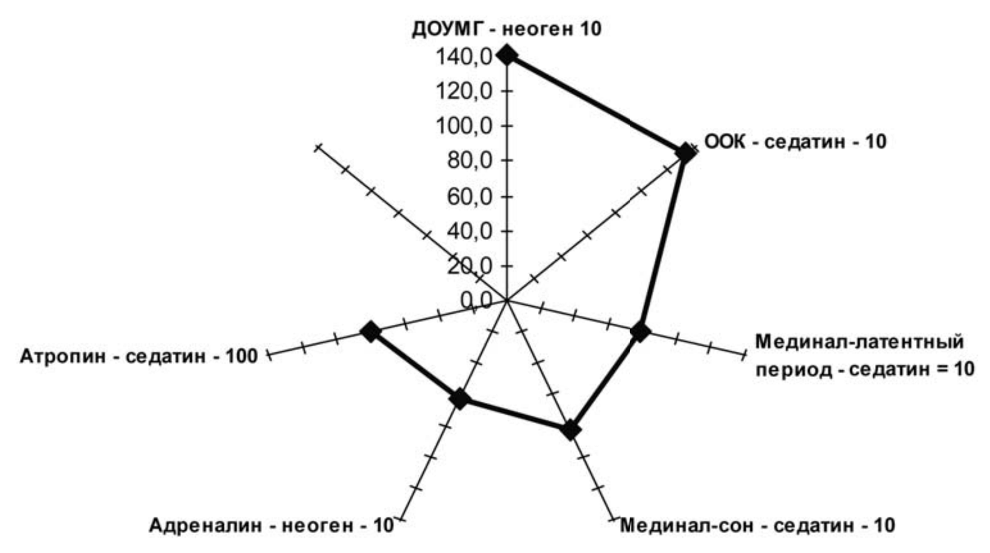


Рисунок 3. Антитоксическое действие седатина и неогена в зависимости от характера экстремального воздействия

с помощью барбитуратной интоксикации оценивали защитное действие олигопептидов на центральную нервную систему. Ее оценивали по длительности латентного периода перед засыпанием и самого сна.

В результате выполненных работ оказалось, что в зависимости от жесткости, силы химических нагрузок и интоксикаций, индивидуальности препаратов и доз прослеживается индивидуальный характер защитных эффектов. Так, при более или менее физиологичных нагрузках (адреналин, атропин, мединал) он более выражен. При интоксикациях острого типа эффективность испытанных олигопептидов заметно снижается.

Однако в целом следует сделать заключение, что тимоген, неоген и седатин проявляют защитное действие при различных химических нагрузках и интоксикациях.

На рисунке 3 наглядно представлены сводные сравнительные данные по антитоксическому действию неогена и седатина. Видно, что оба препарата при разных видах интоксикаций защищают животных в пределах 20% - 40%. Оптимальной дозой олигопептидов является 10,0 мкг/кг.

Выводы

Синтетические олигопептиды – седатин, неоген и тимоген в оптимальных дозах 10,0 – 100,0 мкг/кг проявляют выраженную защитную активность при химических нагрузках и интоксикациях различного характера. Протекторное действие при адреналиновой, атропиновой нагрузках, мединаловом сне и поражении прооксидантами – все с принципиально разными механизмами повреждения – характеризуют высокую неспецифичность адаптогенного действия препаратов и большие перспективы использования их в ветеринарной клинике.

УДК: 591.471.33.473.413.483:636.92.93

О.Р. Скубко, С.Н. Захарченко

(ФГУ ВПО Омский Государственный Аграрный Университет)

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕСПИРАТОРНЫХ МЫШЦ ГРУДНОЙ СТЕНКИ У КУНЬИХ, СОБАЧЬИХ И ЗАЙЦЕВЫХ

Многообразие конструкций скелета грудной клетки, типов движения и различия в экологии у различных видов животных обусловили широкий спектр мнений относительно особенностей морфологии, развития и функционирования дыхательных мышц.

Видовые особенности биоморфологии респираторных мышц у некоторых диких, домашних и лабораторных животных рассмотрены в немногочисленных работах отечественных исследователей [1,2,3,4,5,6,7]. Однако сведения о строении и топографии респираторных мышц грудной стенки у пушных зверей фрагментарны и во многом противоречивы.

Методом обычного и тонкого препарирования нами была изучена морфология мышц-вдыхателей боковой грудной стенки у лисицы серебристо-черной, собаки домашней мезоморфного типа, норки американской, соболя, кролика и зайца-беляка. Материал для исследований был получен из зверохозяйств Омской области, Алтайского края и от охотников-любителей, после убоя половозрелых животных. Всего было изучено по 5 двусторонних препаратов каждого вида животных. Работа проводилась на кафедре анатомии и межкафедральной морфологической лаборатории ИВМ ОмГАУ в период с 1988 по 2008 годы.

Анализируя результаты собственных исследований, мы убеждаемся, что у изученных видов животных в значительной степени развиты все короткие и длинные мышцы грудной стенки. В то же время различные пути адаптации к специфическим условиям среды обитания лисицы, собаки, соболя, норки, кролика и зайца обусловили широкий спектр видовых особенностей формы, топографии, и точек их прикрепления. Так, у куньих угол, образуемый при отхождении поверхностных мышц грудной стенки (краниальной дорсальной зубчатой, лестничных и прямой грудной) от ребер, менее острый, чем у собачьих и зайцевых (табл., рис.). Это, как мы считаем, обусловлено смещением плечевого поя-